

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Dienststelle für wirtschaftliche Fragen und Rechtsangelegenheiten im Pflanzenschutz, Außenstelle Kleinmachnow

## Untersuchungen zur Übertragbarkeit des Kiefernholznematoden (*Bursaphelenchus xylophilus*) von Hackschnitzeln auf *Pinus*-Sämlinge und -Stümpfe

Studies on the transmissibility of the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) from wood chips to *Pinus* seedlings and stumps

Von Helen Braasch

### Zusammenfassung

Experimentell mit *Bursaphelenchus xylophilus* kontaminierte Kiefernholz-Hackschnitzel wurden in Quarantäneboxen unter Freilandbedingungen mit 4jährigen *Pinus sylvestris*-Sämlingen sowie mit Sämlingsstümpfen in 2 Varianten (frisch geschnittenen und 2 Monate vor Versuchsbeginn geschnitten) in Kontakt gebracht und 2 Monate belassen. Die anschließende Untersuchung der Stämme und Stümpfe zeigte, daß *B. xylophilus* nur über frische Verletzungen eindringen konnte. Weder die unverletzten Sämlinge noch die 2 Monate vor Versuchsbeginn geschnittenen Stümpfe enthielten *B. xylophilus*. Letztere wurden von mehreren bakterio- und mykophagen Nematodenarten besiedelt. Die zu Versuchsbeginn geschnittenen Stümpfe enthielten am Versuchsende überwiegend eine *Aphelenchoides*-Art, und nur 16% der insgesamt extrahierten Nematoden gehörten zu *B. xylophilus*.

Es wird geschlußfolgert, daß in den Stümpfen andere Nematodenarten als Konkurrenten von *B. xylophilus* auftreten können. Eine Übertragung der Nematoden von kontaminierten Hackschnitzeln auf frisch verwundete Stümpfe ist jedoch prinzipiell möglich.

**Stichwörter:** *Bursaphelenchus xylophilus*, *Pinus sylvestris*, Übertragung

### Abstract

Pine wood chips experimentally contaminated with *Bursaphelenchus xylophilus* were brought into contact with unwounded four-year-old *Pinus sylvestris* seedlings as well as with two variants of seedling stumps of this species (fresh cut or those cut two months earlier), and were left in quarantine boxes under field conditions for two months. It showed when the nematodes were subsequently extracted from the stems and stumps that nematodes could penetrate into them only if there had been fresh wounds. *Bursaphelenchus* nematodes were neither found on the intact seedlings nor on the stumps cut two months before the begin of the test. The latter were settled with several bacteriophagous and mycophagous nematode species. At the end of the experiment, the freshly cut stumps contained mainly nematodes of an *Aphelenchoides* species, and only 16% of the extracted nematodes were *B. xylophilus*.

It is concluded that in stumps other nematode species can affect the development of *B. xylophilus*. Indeed, on principle the nematodes can be transmitted from contaminated wood chips to fresh wounded stems.

**Key words:** *Bursaphelenchus xylophilus*, *Pinus sylvestris*, transmission

### Einleitung

Im Rahmen einer Risikoanalyse für den Quarantänenematoden *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner und Buhner, 1934) Nickle, 1970 sind alle Aspekte seiner Übertragbarkeit von Interesse. Der im Holz von Koniferen lebende Kiefernholznematode kommt in Europa nicht vor, ist in Nordamerika beheimatet und wurde von dort mit Holz nach Ostasien verschleppt, wo er in Japan und China große Schäden verursacht.

Die Übertragung des Nematoden von Baum zu Baum oder von Holz auf Bäume oder frisch gefällte Stämme erfolgt in allen Vorkommensgebieten durch Bockkäfer der Gattung *Monochamus* bei deren Reifefraß oder bei der Eiablage. Es besteht kein Zweifel, daß in der Übertragung durch Vektoren das größte Risiko hinsichtlich der Verbringung des Nematoden liegt. Wiederholt ist auch die Frage diskutiert worden (MAGNUSSEN, 1986; McNAMARA und STOEN, 1988; TOMMINEN, 1993), ob von kontaminierten Hackschnitzeln (oder Abfällen von befallenem Holz) eine Einschleppungsgefahr für importierende Länder ausgeht. Eine Reihe holzbrütender Insektenarten (z. B. *Hylastes* spec.) wird von Hackschnitzelhaufen angelockt; ein zufälliges Verbringen des Kiefernholznematoden durch solche Arten ist nicht auszuschließen (TOMMINEN, 1993).

Eine weitere Übertragungsmöglichkeit könnte im physischen Kontakt von Koniferenpflanzen, Stümpfen oder Holz mit kontaminierten Holzpartikeln (z. B. beim Verbringen von Hackschnitzeln oder Holzabfällen in den Wald) liegen. KIYOHARA und TOKUSHIGE (1971) hatten gezeigt, daß von nahe dem Wurzelsystem eingegrabenen und befallenen Stammscheiben *B. xylophilus* in verwundete Wurzeln eindringen kann. Eine Übertragung durch Boden ist dagegen unwahrscheinlich, da der Nematode dort nicht lange lebensfähig ist (MAMIYA und SHOI, 1989). Ein Befall von *Pinus*-Sämlingen über den Boden konnte nur dann erzielt werden, wenn eine Nematodensuspension in unmittelbarer Nähe verletzter Wurzeln gebracht wurde. Die Übertragbarkeit von *B. xylophilus* aus dem Boden bei gemischten oder gemulchten Hackschnitzeln auf verwundete Wurzeln bzw. basal verwundete Sämlinge von *P. sylvestris* und *P. resinosa* konnte im Nordosten der USA bei Durchschnittstemperaturen von 17 bis 23 °C nachgewiesen werden (HALIK und BERGDAHL, 1987, 1992). Zugleich wird auch von einem experimentell nicht verletzten Sämling (*P. resinosa*) unter 12 Versuchspflanzen berichtet, der von *B. xylophilus* befallen wurde und abstarb. *P. sylvestris* zeigte

sich bei diesen Übertragungsversuchen insgesamt empfindlicher als *P. resinosa* und *P. strobus*.

Mit vorliegenden Versuchen sollte unter mitteleuropäischen Freilandbedingungen geprüft werden, ob der Kiefernholz-nematode in der Lage ist, in unverletzte Sämlinge einzudringen, und ob frisch geschnittene oder ältere Stümpfe durch Kontakt mit kontaminierten Hackschnitzeln von *B. xylophilus* besiedelt werden können.

### Material und Methodik

Aus frischem, entrindeten und nematodenfreien Holz von *P. sylvestris* wurden Hackschnitzel von maximal 3 cm Länge und geringerer Dicke erzeugt. Die zur Kontamination der Hackschnitzel verwendeten Nematoden (*B. xylophilus*, Isolat US 15, r-Form) waren an *Botrytis cinerea* auf Malzagar vermehrt worden. Die Hackschnitzel wurden mit einer Nematodensuspension kontaminiert, in Plastbeutel verpackt und 20 Tage lang bei 23 °C aufbewahrt. Die danach zum Versuch verwendeten Hackschnitzel enthielten ca. 10 000 Nematoden pro 10 g Schnitzel. Die 15 im Vorjahr getopften, 4-jährigen, unverletzten Sämlinge von *P. sylvestris* bzw. die 7 cm langen Stümpfe von solchen Sämlingen (15 frisch geschnitten, 15 bereits 2 Monate vor Versuchsbeginn geschnitten) wurden am 17. 5. 1994 mit je 60 g Hackschnitzeln umhüllt, die von einem oben und unten offenen Blumentopf (10 × 9 cm) gehalten wurden. Die Schnittstellen der Stümpfe waren von Hackschnitzeln bedeckt. Die Töpfe wurden an einem halbschattigen Standort in überdachten Quarantäneboxen in Kleinmachnow (nahe Berlin) aufgestellt und feucht gehalten. Die Lufttemperatur erreichte am Tag des Versuchsbeginns maximal 22 °C. In den folgenden Wochen herrschte jedoch kühles Wetter mit Wochenmitteln der Lufttemperatur von 12 bis 14,5 °C im Mai und einem Monatsmittel von 15,9 °C im Juni. Der Juli (Mittel 22,2 °C) war übernormal warm.

Am 19. 7. 1994 wurden die Sämlinge und Stümpfe kurz über dem Erdboden abgeschnitten und von den Sämlingen Zweige und Nadeln entfernt. Die zu untersuchenden Teile wurden nach Säuberung und äußerlicher Entwesung zerkleinert und nach dem modifizierten Baermann-Trichter-Verfahren zur Extraktion der Nematoden 2 Tage lang angesetzt.

### Ergebnisse

Aus den Stümpfen konnten zahlreich, aus den unverletzten Sämlingen keine Nematoden extrahiert werden (Tab. 1). Von den 15 vor der Kontamination frisch geschnittenen Stümpfen enthielten 10 Nematoden mit einem durchschnittlichen Besatz von 134 Tieren pro befallenen Stumpf. Von den 2 Monate vor der Kontamination geschnittenen 15 Stümpfen enthielten 13 Nematoden mit einem Besatz von 194 Tieren pro befallenen Stumpf.

Die mikroskopische Untersuchung ergab jedoch, daß in den älteren Stümpfen keine Kiefernholz-nematoden, sondern vorwiegend

Rhabditiden und Aphelenchoididen (Bakterien- und Pilzfresser) vorhanden waren. Die vor Zugabe der Hackschnitzel frisch geschnittenen Stümpfe enthielten nur zu 16 % der extrahierten Nematoden *B. xylophilus*, daneben zahlreich eine *Aphelenchoides*-Art.

### Diskussion

Die von MAMIYA und SHOJI (1989) und HALIK und BERGDAHL (1987, 1992) getroffene Feststellung, daß *B. xylophilus* von kontaminierten Hackschnitzeln nicht auf unverletzte Kiefernpflanzen übergehen kann, konnte bestätigt werden. In Stümpfe drang der Nematode nur dann ein, wenn diese vor der Zugabe der Hackschnitzel frisch geschnitten waren. Die Anwesenheit anderer Nematodenarten in den Stümpfen gibt außerdem Anlaß zu der Annahme, daß diese in Holz mit Vitalitätsverlust als Konkurrenten auftreten können. Möglicherweise wird die Besiedlung solchen Holzes durch *B. xylophilus*, der außer seinem phytophagen ein mykophages Potential besitzt, infolge der Zunahme bakteriophager und mykophager Arten erschwert, so daß dieses nur zeitlich begrenzt vom Kiefernholz-nematoden genutzt werden kann. Selbst in den frisch geschnittenen, teilweise am Ende des Versuches jedoch abgestorbenen Stümpfen war die dort vorhandene *Aphelenchoides*-Art in ihrer Vermehrung dem Kiefernholz-nematoden überlegen. Für solche Dominanzerscheinungen können allerdings auch Klimafaktoren verantwortlich sein. *B. xylophilus* ist an relativ niedrige Temperaturen, wie sie in der ersten Hälfte des Versuchszeitraumes verzeichnet wurden, weniger gut angepaßt als einheimische Arten. Weitere Untersuchungen zu den Nematoden-Sukzessionen in geschnittenem Holz sind erforderlich, um dessen Bedeutung als Kettenglied für eine mögliche Verbreitung des Kiefernholz-nematoden zu erfassen.

Die Tatsache, daß der Kiefernholz-nematode in frisch geschnittene Stümpfe und nach KIYOHARA & TOKUSHIGE (1971) in frisch verletzte Pflanzen von kontaminiertem partikuliertem Holz aus eindringen kann, weist dennoch auf einen möglichen Übertragungsweg hin. Verletzungen an Koniferen sind durch mechanische Einwirkungen (Pflanzung, Windbruch, Fällungen) sowie durch das Verhalten von Tieren (Insekten, Nager, Verbiß durch Schalenwild usw.) möglich. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß der Nematode über den Weg von Holz zu Holz schließlich an seinen Hauptvektor *Monochamus* gelangt, nämlich dann, wenn er auf frisch gefällte Stämme oder lebende verletzte Pflanzen übergeht. Das Risiko ist jedoch um so eingeschränkter, je kühler die Temperaturen zum Zeitpunkt des Kontaktes und auch nachfolgend sind, denn um so geringer sind auch die Vermehrung und Ausbreitungstendenz des Kiefernholz-nematoden im Holz.

Für eine erfolgreiche Einbürgerung von *B. xylophilus* von befallenen Holzimporten aus über den Kontakt von Holz zu Holz ist allerdings die Abfolge der für den Erfolg erforderlichen Faktoren komplexer als beim Abflug kontaminierter Vektoren von importiertem Holz zu heimischen Bäumen. *B. xylophilus* wird gemäß der von

Tab. 1. Ergebnisse der Extraktion von Nematoden aus Sämlingen und Stümpfen 2 Monate nach der Kontamination mit von *B. xylophilus* befallenen Hackschnitzeln

Versuchsvariante	Anzahl (%) befallener Sämlinge/Stümpfe	Durchschnittliche Anzahl extrahierter Nematoden pro befallenen Sämling/Stumpf	Durchschnittliche Anzahl extrahierter Nematoden pro g Holz (ungetrocknet)	Durchschnittlicher Anteil (%) <i>B. xylophilus</i> an den extrahierten Nematoden pro befallenen Sämling/Stumpf
Sämlinge (n = 15)	0	0	0	0
Frisch geschnittene Stümpfe (n = 15)	10 (67%)	134 (3–384)	61	21 (16%)
2 Monate vor der Kontamination geschnittene Stümpfe (n = 15)	13 (87%)	194 (2–448)	267	0

einem Expertenteam der Europäischen Union durchgeführten Risikoanalyse als für Europa gefährlicher Quarantäneschädling betrachtet, der sich zumindest in den wärmeren Gebieten Europas zu einem Schädling von großer Bedeutung entwickeln kann. Aus diesem Grunde ist jedem möglichen Übertragungsweg Bedeutung beizumessen.

#### Literatur

- HALIK, S., and D. R. BERGDAHL, 1987: Infestation of wounded roots of *Pinus strobus* by *Bursaphelenchus xylophilus* from contaminated wood chips in soil. *Phytopathology* **77**, 1615.
- HALIK, S., and D. R. BERGDAHL, 1992: Survival and infectivity of *Bursaphelenchus xylophilus* in wood chip-soil mixtures. *J. Nematology* **24**, 495–503.
- KIYOHARA, T., and Y. TOKUSHIGE, 1971: Inoculation experiments of a nematode, *Bursaphelenchus* sp., onto pine trees. *J. Jap. For. Soc.* **53**, 210–218.
- MAGNUSSON, C., 1986: Potential for establishment of *Bursaphelenchus xylophilus* and the pine wilt disease under Nordic conditions. *EPPO Bulletin* **16**, 465–471.
- MAMIYA, Y., and T. SHOJI, 1989: Capability of *Bursaphelenchus xylophilus* to inhabit soil and to cause wilt of pine seedlings. *Jap. J. Nematology* **18**, 1–5.
- MCMANARA, D. G., and M. STOEN, 1988: A survey for *Bursaphelenchus* spp. in pine forests in Norway. *EPPO Bulletin* **18**, 353–363.
- TOMMINEN, J., 1993: An assessment of the pine wood nematode and related species in wood products and their potential risk to Finnish forests. University of Helsinki, Dep. Agric. Forest Zool. Reports **18**, 120 S.

*Kontaktanschrift: Dr. Helen Braasch, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Dienststelle für wirtschaftliche Fragen und Rechtsangelegenheiten im Pflanzenschutz, Außenstelle Kleinmachnow, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 Kleinmachnow*